

피부의 수상돌기 세포

(Dendritic cells in the skin)

이민걸

연세대학교 의과대학 피부과학교실

요 약

수상돌기 세포는 인체의 1차 면역반응을 일으키는 가장 강력한 항원 전달세포이다. 피부의 수상돌기 세포에는 표피의 랑게르한스 세포와 진피의 수상돌기 세포가 있으며, 이중 표피의 랑게르한스 세포에 관한 많은 연구가 이루어져 있다. 암, 자가면역 질환, 장기 이식, 감염 등의 면역 반응에 가장 중요한 항원 전달 세포인 수상돌기 세포의 이해에 표피의 랑게르한스 세포가 중요한 역할을 하였다.

본 논문에서는 피부질환 중 알레르기성 접촉 피부염과 아토피성 피부염에서 랑게르한스 세포의 역할에 관하여 최근 알려진 사실들을 기초로 기술하였다. 그리고 랑게르한스 세포연구에 필요한 실험 방법을 간단히 기술하였다.

Abstract

Dendritic cells(DC) are a system of highly efficient antigen-presenting cells that initiate the primary immune response. There are two kinds of dendritic cells in the skin, Langerhans cell in the epidermis and dermal dendritic cell in the dermis. The knowledge of DC, which are very important in the immune response of cancer, autoimmune disease, transplantation and infection, has been known through the study about Langerhans cells.

In this paper, the role of Langerhans cell in the contact hypersensitivity and atopic dermatitis is discussed and culture methods of mouse Langerhans cells and human DC from peripheral blood monocytes are described.

대한화장품학회지, 제25권, 2호, 1999

1. 수상돌기 세포(Dendritic cell, DC)

1973년 Steinman과 Cohn은 쥐의 비장에서 새로운 강력한 항원전달세포를 발견하고 이 세포가 높은 운동성을 보이며 수 개의 돌기를 갖고 있는데 착안하여, '수상돌기세포(dendritic cell)'라고 명명하였다(1). 이후 수상돌기세포는 다른 여러 림프기관(림프절, 흉선)에서 관찰되었고, MHC Class II 양성이면서 대식세포와 구분되고 naive T 세포를 자극하여 일차면역반응(primary immune response)을 유발하는 기능이 있음이 알려졌다. 그러나 이러한 실험적인 결과에도 불구하고 이 수상돌기세포에 대한 개념은 면역학자들 사이에 쉽게 받아들여지지 않았다. 그 이유로는 첫째, 림프기관에서 1%이하를 차지하는 이 세포에 대해 그 당시 연구하는 사람들이 적었으며, 둘째, 대부분의 면역학자들은 전문적인 식세포 기능을 갖고 있는 대식세포가 가장 중요한 항원전달 세포라는 과거의 생각을 고수하였고, 셋째, 비장, 림프절 등에서 존재하는 매우 적은 수의 수상돌기세포가 신체말단에 소량 부착하는 항원을 인지하여 체내의 면역반응을 시작한다는 것을 이해할 수 없었기 때문이다.

1985년 Schuler 와 Steinman은 쥐의 표피에 존재하는 항원 전달 세포인 랑게르한스 세포를 배양하면, 이차림프기관에서 관찰되는 면역유발기능이 강한 수상돌기세포로 성숙함을 관찰하여, 항원에 의하여 자극 받지 않는 표피의 랑게르한스 세포가 임파절 내에 존재하는 수상돌기세포의 미성숙 세포임을 알게 되었고, 수상돌기세포의 성숙(DC maturation)개념을 제시하였다(2). 즉, 피부의 랑게르한스 세포는 미성숙 수상돌기세포로서 항원 처리 능력이 특화 되어 있으며(antigen processing mode), 수상돌기세포로 성숙한 후에는 항원 처리 능력은 약화되고 T 세포 감작 기능이 발달한다(T-cell stimulatory mode)(3,4). 1990년 Kripke 등은 피부를 이식한 nude mouse의 이식한 부위에 hapten으로 접촉반응을 일으킨 후, 주위 배수 림프절(drainage lymph node)에서 이식한 피부에서 유래된 랑게르한스 세포를 발견하였다(5). 이를 통하여 표피의 항원 전달 세포인 랑게르한스 세포가 항원의 자극을 받으면 주위 배수 임파절로 이동한다는 것이 알려졌다(migration of Langerhans cell), drainage lymph nodes에서 발견된 랑게르한스 세포의 표면 항원들의 표현형이 이차림프기관의 수상돌기세포와 동일함을 확인하여, 랑게르한스 세포가 표피에서 미성숙 수상돌기세포로 있다가 항원의 자극을 받은 후 배수 임파절로 이동하여 성숙한 수상돌기세포가 됨을 확인하였다. 그후 cytokines으로 미성숙세포에서 성숙된 수상돌기세포를 만들 수 있음이 보고되었다(6). 그러나 수상돌기 세포나 랑게르한스 세포는 각 장기에 존재하는 수가 워낙 적어 이 분야의 연구에 제약이 많았으나, 1992년 CD34 양성세포에서 GM-CSF와 TNF-a로 수상돌기세포로 대량 배양이 가능함이 보고되면서(7-9) 수상

돌기 세포의 연구가 활성화되었다. 그후 말초혈액에서 적은 양만 존재하는 CD34 양성 세포에서만 아니라, 말초혈액에서 약 5 ~ 10%정도인 CD14 양성 세포에서도 GM-CSF와 IL-4로 수상돌기세포의 배양이 가능함을 보고하였다(10-11).

2. 랑게르한스 세포(Langerhans cell)

랑게르한스 세포는 1868년 당시 의과대학 학생이었던 Paul Langerhans가 처음 발견한, 표피에 존재하는 항원 전달 세포(antigen presenting cell)로 표피 세포의 약 2 ~ 5%를 차지하고 있다(12). 랑게르한스 세포의 기원에 관하여는 발견 당시 신경계 세포로 알려졌다가, 1940 ~ 1950년경에는 멜라닌세포로, 그러다가 1970년대에 랑게르한스 세포에서 Fc receptor와 C3 receptor가 발견되고 골수에서 생성됨이 확인되면서 monocyte-macrophage계통의 세포로 알려졌으나 1985년 배양한 랑게르한스 세포의 표면항원들의 발현이 비장이나 혈액 속에 존재하는 수상돌기 세포와 동일함을 발견하고 수상돌기 세포계통임이 확인되었다(2). 랑게르한스 세포는 표면에 MHC-II를 가지면서 hapten뿐 아니라 외부의 다른 단백질 항원, 바이러스 항원, 종양항원들을 주위의 T림프구에 전달하는 피부의 면역반응에 중요한 항원 전달세포이다. 특히 알레르기성 접촉 피부염, 감염성 질환뿐 아니라 피부암에서의 랑게르한스 세포의 역할에 관한 많은 연구들이 진행되고 있고, 최근엔 아토피성 피부염에서 랑게르한스 세포의 역할에 관한 연구들이 많이 진행되고 있다.

3. 랑게르한스 세포와 접촉피부염

피부가 hapten등 외부의 항원에 노출되면 표피의 각질 형성세포와 부착되어 있던 랑게르한스 세포는 표피의 기저막을 뚫고 진피로 내려가 주위의 임파관을 통하여 주위 림프절로 이동한다. 표피에 존재하는 랑게르한스 세포가 어떤 기전으로 진피로 내려가 주위 임파관으로 옮겨가는지에 대한 여러 보고들이 있다. 랑게르한스 세포의 표피로부터 진피로의 이동에는 여러 가지 피부유착인자(adhesion molecule)등이 관여한다. 즉 랑게르한스 세포의 E-cadherin 발현이 감소하고, CD44, a4 integrin, ICAM-1등의 발현이 증가한다. 그리고 랑게르한스 세포가 진피로 이동하는데 관여하는 cytokine으로는 TNF-a와 IL-1 b가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이동한 랑게르한스 세포는 림프절 내에서 항원과 접촉이 없었던 naive T림프구를 기억세포로 변화시키면서 항원에 특이한 기억세포를 증식시킨다(감작반응). 일단 감작된 사람에게 재차 동일한 항원이 침투하게 되면 이 항원들은 랑게르한스 세포에 의해 기억세포에 항원을 전달하게 되는데 이 반응은 표피나 진피 혹은 주위 임파절에서 일어나면서, 피부에 홍반, 부종 등을 동반한 습진양 병변이 발생한다. 그리고 랑게르한스 세포가 T 림프구에 항원을 전달하기 위해서는 항원을 랑게르한스 세포가 가지고 있는

MHC-II에 붙여서 T림프구의 T cell receptor(TCR)에 전달하여야 하고, 이때 랑게르한스 세포에서 발현되는 세포유착분자(cell adhesion molecules)인 co-stimulatory molecules가 필요하다.

4. 랑게르한스 세포와 아토피 피부염

아토피 피부염 환자의 랑게르한스 세포에서 IgE가 발견됨으로써(13, 14) 접촉 피부염 뿐 아니라 아토피 피부염에서도 랑게르한스 세포가 어떤 역할을 하리라는 생각들을 하게 되었다. 그후 랑게르한스 세포에서 IgE Fc ϵ RII(CD23)(15)와 human IgE binding protein(ϵ BP)(16)이 아토피 피부염 병변 뿐 아니라 정상 피부에서도 발견되었으나 상기의 IgE receptor에 대한 항체로는 랑게르한스 세포에 대한 IgE의 부착을 완전히 차단할 수 없어 다른 IgE receptor가 있으리라 생각하다가 1992년에 IgE에 대한 high-affinity receptor인 Fc ϵ RI이 발견되었다(17-19). 보통의 Fc ϵ RI은 1개의 α chain 과 β chain 그리고 2 개의 γ chain으로 구성되나 랑게르한스 세포에선 β chain이 없다. 그리고 basophil과 mast cell은 많은 양의 Fc ϵ R가 있으나 랑게르한스 세포에선 사람에 따라 병변의 정도에 따라 Fc ϵ R 발현 정도에 차이가 크다. 즉 아토피가 없는 정상인의 피부에는 Fc ϵ R의 발현이 매우 낮으나 아토피 피부염의 병변에선 매우 높게 증가하며(20, 21), 발현되는 Fc ϵ R의 양과 혈청내 IgE의 양에는 서로 비례관계가 있음이 알려져 있다(21).

랑게르한스 세포에서 Fc ϵ RI의 역할은 항원전달세포로서의 기능을 잘 할 수 있도록, 항원이 부착된 IgE가 Fc ϵ RI에 붙어 endocytosis가 발생함으로써 평소에는 잘 인지할 수 없었던 큰 항원들을 인지할 수 있게 하리라 생각되며 항원 인지 뿐 아니라 mast cell이나 basophil에서와 같이 아직 정확히 알려져 있지 않은 mediators를 분비케 하는 역할을 하리라 생각한다.

5. 랑게르한스 세포의 배양

일반적으로 랑게르한스 세포는 마우스나 사람의 표피에서 분리하여 이용한다. 표피에서 분리한 직후의 랑게르한스 세포를 fresh Langerhans cell(fLC)이라 하고 1 ~ 3일간 배양하여 성숙한 수상돌기 세포의 특징을 갖는 것을 cultured Langerhans cell(cLC)이라 한다(Table 1). 마우스나 사람의 전체 표피세포를 배양하여 얻을 수 있는 cLC은 대체로 10 ~ 40%정도의 농도이며 대부분 전체 표피세포를 배양한 후 Ficoll Hypaque 등의 밀도구배 원심분리로 얻는다. 순수하게 랑게르한스 세포만을 얻기 위해서는 magnetic bead등을 이용하여 98 ~ 99%정도의 랑게르한스 세포를 분리할 수 있다. 그러나 이들 방법으로 얻을 수 있는 랑게르한스 세포의 수에 제한이 있어 최근에는 랑게르한스 세포의 연구에

골수나 피에서 얻은 세포에서 여러 가지 cytokines들을 이용한 수상돌기 세포들의 배양법이 많이 이용되고 있다. CD34 양성 세포를 배양하여 얻은 수상돌기 세포가 랑

Table 1. fLC와 cLC와의 비교

	fLC	cLC*
MHC class II	+	+++
Macrophage maker		
ATPase	+	-
nonspecific esterase	+	-
Fc receptor(CDw32)	+	-/+
F4/80 Mo Ag	+	-
Birbeck granule	+	-
Adhesion mol/surface Ag		
ICAM-1(D54)	+	+++
LFA-3(CD58)	+	+++
B7/881	+	+++
Mac-1	+	+
CD-45	+	+
Stimulating resting Tell	poor	excellent
Ag processing	excellent	poor

* The same as antigen phenotype as DC from spleen or blood

게르한스 세포의 연구에 좋으나, CD34양성 세포를 규칙적으로 얻기가 어려워 본 연구자는 monocyte를 이용한 수상돌기 세포를 배양하였다.

랑게르한스 세포의 연구를 위하여 마우스가 많이 이용된다. 그러므로 마우스의 피부에서 랑게르한스 세포를 얻는 방법(22, 23)과 최근에 많이 연구되고 있는 사람의 말초 혈액에서 수상돌기 세포를 얻는 방법(24, 25)을 간단히 기술하면 다음과 같다.

1) 마우스의 cLC(배양한 랑게르한스 세포) 얻는 법

가. 마우스의 귀를 잘라 70%알코올에 5분간 담근다.

나. Hood로 옮겨 70% 알콜과 PBS용액(3회)으로 세척한다(미리 hood내에 70%알코올이 담긴 petri dish 2개와 PBS가 담긴 petri dish 3개를 준비한다).

다. 진피를 연골과 지방층으로부터 분리하여 0.5% trypsin(10ml)이 담긴 petri dish에 진피가 아래로 오도록 넣고 37°C CO₂ 배양기에서 40분간 배양한다.

라. 표피를 진피로부터 분리하여 약 30% 우태아 혈청이 포함된 0.05% DNase가 포함된

용액에 넣는다(10ml of 0.05% DNase in RPMI + 3ml의 우태아 혈청).

- 마. 60cc 주사기로 up and down aspiration을 반복하면서 표피세포들을 분리시킨다.
- 바. Pipette을 이용하여 nylon mesh로 걸러서 50ml conical tube로 옮긴다.
- 사. 1200rpm에서 5분간 원심분리한다. 2 ~ 5% 우태아 혈청으로 3회 세척한다.
- 아. 세포의 수를 센 후 10% 우태아 혈청이 포함된 RPMI(항생제, glutamine, nonessential amino acid, 2-mercaptoethanol, HEPES 포함)로 적정 농도($2 \sim 5 \times 10^7$ /T-75 flask)로 맞추어 T-75 혹은 T-25 flask에 2 ~ 3일간 배양한다.
- 자. 붙어 있는 각질형성세포 이외에 부착되지 않았거나 바닥에 살짝 부착된 세포들을 얻어 원심분리하고 5% 우태아 혈청이 포함된 RPMI용액으로 세척한다.
- 차. 15ml conical tube에 3ml의 lympholyte M(Cedarlane Laboratories Limited) 혹은 Ficoll-Hypaque을 미리 넣어 두고 그 위에 상피세포들(5×10^6 cells/ml) 5ml를 조심스럽게 넣어 밀도구배 원심분리를 시킨다(1400rpm에서 10분간).
- 카. 경계면에 떠 있는 세포들을 얻어 2 ~ 5% 우태아 혈청이 섞인 RPMI로 1200rpm에서 10분간 원심분리하고 1회 세척한다.
- 타. Flow cytometry 등으로 cLC의 %를 확인하고 필요한 실험에 이용한다.

2) 사람 말초 혈액을 이용한 수상돌기 세포의 배양(Culture of human blood-derived dendritic cells)

가. 말초혈액내 단핵구(peripheral mononuclear cell) 분리

정상인의 혈액 10ml를 5U/ml heparin, 2mM EDTA가 포함된 20ml PBS 용액과 혼합한 후 50ml의 conical tube에 넣은 15ml Ficoll/Hypaque(density : 1.0777g/ml) 용액 위에 혼합액을 조심스럽게 넣는다. 상온에서 20분 동안 원심분리를 행한 후(200xg) 상층의 혈장 20 ~ 25ml를 조심스럽게 분리하여 보관한 다음 다시 20분 동안 상온에서 원심 분리를 계속한다(400xg). 계면(interfaces)을 모은 후 차가운 5mM EDTA의 PBS 용액으로 5차례에 걸쳐 세척하여(2500rpm, 10min) 단핵구를 얻는다.

나. 혈장의 준비(Preparation of plasma)

정상인 혈액에서 단핵구를 분리할 때 얻은 혈장을 56℃에서 30분 동안 정치시켜 열비동화(heat-inactivation)한 후 혈소판을 제거하기 위해 10분 동안 원심 침전을 시행한다(1000xg). 이때 얻어진 혈소판을 제거한 상층액을 자가혈장(autologous plasma)으로 이용한다.

다. T 세포와 B세포의 제거(Depletion of T- and B cell)

두 가지 방법을 이용한다.

ㄱ. 면역 자기 구슬을 이용한 분리 : 면역 자기 구슬인 Dynabeads(Dynal, Norway) Pan-B-CD19와 Pan T- CD2를 2% human serum albumin이 포함된 PBS에 4회 세척한다. 분리된 단핵세포($3 \sim 5 \times 10^7/ml$)를 자기 구슬(magnetic beads)과 1 : 1 : 1(PBMC : CD-2beads : CD-19-beads)의 비율로 혼합한 후 4°C에서 45분 동안 Dynal mixer로 혼합한다. T 세포와 B 세포는 Dynal magnet를 통하여 제거되고 Dynal magnet에 유착을 보이지 않은 남아 있는 세포를 세포 배양에 사용한다.

ㄴ. 세포 유착법을 통한 분리 : 원심 침전을 통해 분리된 단핵세포를 X-VIVO 용액에 다시 부유시킨 후, 6-well plate에 각 well당 단핵세포($1 \times 10^7/3ml$)를 20분 동안 정치시킨다(37°C, 5% CO₂). 20분 후 부착되지 않은 세포는 가볍게 3회 세척하여 제거하고 well에 유착되어 있는 세포를 세포배양에 이용한다.

라. 단핵세포의 배양(Culture of PBMC)

6-well tissue culture plate의 각 well당 3×10^6 정도의 단핵구를 3ml의 X-VIVO-15 (BioWhittaker, Maryland, USA) 배양액에 넣는다. 여기에 1.5% 열비동화(heat-inactivated) 자가혈장을 더하고 1000U/ml rh-GM-CSF(LG, Korea)와 1000U/ml-rhIL-4(PBH, Hannover, Germany)를 넣어 수상돌기 세포를 배양한다.

참 고 문 헌

1. Steinman RM, Cohn ZA : Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution., *J. Exp. Med.* 1973 ; **137** : 1142-1162.
2. Schuler G, Steinman GM : Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro., *J. Exp. Med.* 1985 ; **161** : 526-546.
3. Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone AM, Fathman CG, Inaba K, Steinman RM : Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones : Intact protein is presented best by immature epidermal Langerhans cells., *J. Exp.*

- Med.* 1989 ; **169** : 1169-1178.
4. Kaempgen E, Koch N, Koch F, Stoeger P, Heufler C, Schuler G, Romani N : Class II major histocompatibility complex molecules of murine dendritic cells : Synthesis, sialylation of invariant chain, and antigen processing capacity are down-regulated upon culture., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991 ; **88** : 3014-3018.
 5. Kripke ML, Munn CG, Jeevan A, Tang J-M, Bucana C : Evidence that cutaneous antigen-presenting cells migrate to regional lymph nodes during contact hypersensitivity., *J. Immuno.*, 1990 ; **145** : 2833-2838.
 6. Steinman RM : The dendritic cell system and its role in immunogenicity., *Annu. Rev. Immunol.*, 1991 ; **9** : 271-296.
 7. Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, Banchereau J : GM-CSF and TNF α cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells., *Nature*, 1992 ; **360** : 258-61.
 8. Inaba K, Steinman RM, Pack MW, Aya H, Inaba M, Sudo T, Wolpe S, Schuler G : Identification of proliferating dendritic cell precursors in mouse blood., *J. Exp. Med.*, 1992 ; **175** : 1157-1167.
 9. Strunk D, Rappersberger K, Egger C, Strobl H, Kroemer E, Elbe A, Maurer D, Stingl G : Generation of human dendritic cells Langerhans cells from circulation CD34+ hematopoietic progenitor cells., *Blood*, 1996 ; **87** : 1292-1302.
 10. Bender A, Sapp M, Schuler G, Steinman RM, Bhardwaj N : Improved methods for the generation of dendritic cells from nonproliferating progenitors in human blood., *J. Immunol. Methods*, 1996 ; **196** : 121-135.
 11. Kasinrerk W, Baumruker T, Majdic O, Knapp W, Stockinger H : CD1 molecule expression on human monocytes induced by granulocyte-macrophage colony stimulating factor., *J. Immunol.*, 1993 ; **150** : 579-584.
 - 12.. Wolf K : The fascinating story that began in 1868. In Schuler G, ed., *Epidermal Langerhans' Cell*. Boca Raton : CRC Press, 1991 : 1-22.
 13. Bruijnzeel C-Koomen C, van Wichen D, Toonstra J, Berrens L, Bruijnzeel C : The presence of Ig E molecules on epidermal Langerhans cell from patients of atopic dermatitis., *Arch. Dermatol. Res.*, 1986 ; **278** : 199-205.
 14. Bieber T, Dannenberg B, Prinz JC, Rieber EP, Stolz W, Braun-Falco O, Ring J : Occurrence of IgE bearing epidermal Langerhans cell in atopic eczema : A study of the

- time course of the lesions and with regard to the IgE serum level., *J. Inves. Dermatol.*, 1989 ; **92** : 215-219.
15. Bieber T, Rieger A, Neuchrist C, Prinz JC, Rieber EP, Boltz-Hitulescu G, Scheiner O, Kraft D, Ring J, Stingl G : Induction of Fc ϵ R2/CD23 on human epidermal Langerhans cells by human recombinant interleukin 4 and γ interferon., *J. Exp. Med.*, 1989 ; **170** : 309.
 16. Liu FT : Molecular biology of IgE-binding protein IgE-binding factors, and IgE-receptors., *Crit. Rev. Immuno.*, 1990 ; **10** : 289.
 17. Bieber T, de la Salle H, Wollenberg A, Hakimi J, Chizzonite R, Ring J, Hanau D, de la Salle C : Human epidermal Langerhans cell express the high affinity receptor for immunoglobulin E(Fc epsilon RI), *J. Exp. Med.*, 1992 ; **175** : 1285-1290.
 18. Wang B, Rieger A, Kilgus O, Ochiai K, Maurer D, Fodinger D, Kinet JP, Stingl G : Epidermal Langerhans cells from normal human skin bind monomeric IgE via Fc epsilon RI., *J. Exp. Med.*, 1992 ; **175** : 1353-1365.
 19. Grabbe J, Haas N, Hamann K, Kolde G, Hakimi J, Czarmetzki BM : Demonstration of the high affinity IgE receptor on human Langerhans cells in normal and diseased skin., *Br. J. Dermatol.*, 1993 ; **129** : 120-123.
 20. Bieber T, Ring J : In vivo modulation of the high affinity receptor for IgE. Fc ϵ RI on human epidermal Langerhans cells., *Int. Arch. Allergy. Clin. Immunol.*, 1992 ; **99** : 204-207.
 21. Wollenberg A, Kraft S, Jamaui D, Bieber T : Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and a novel, inflammatory dendritic epidermal cell(IDEC) population in lesional skin of atopic eczema., *J. Invest. Dermatol.*, 1996 ; **106** : 446-453.
 22. Hauser C, Snapper CM, Ohara J, Paul WE, Katz SI : T helper cell growth with hapten-modified cultured Langerhans' cells produce interleukin 4 and stimulate IgE production by B cell., *J. Immunol.*, 1989 ; **19** : 245-251.
 23. Lee MG, Borkowski TA, Udey MC : Regulation of expression of B7 by murine Langerhans' cells : a direct relationship between B7 mRNA and the levels of surface expression of B7 by Langerhans' cells., *J. Invest. Dermatol.*, 1993 ; **101** : 883-886.
 24. Romani M, Reider D, Heuer M, Ebner S, Kampgen E, Eibl B, Niederwieser D, Schuler

G : Generatio of mature dendritic cells from human blood : An improved method with special regard to clinical applicability., *J. Immunol. Methods*, 1996 ; **196** : 137-151.

25. Gwang Seong Choi, Min-Geol Lee : Analysis of methods for the generation of dendritic cells from human pepheral blood monocytes., *Yonsei Med. J.*, 1999 ; in press.